

PCT/JP 03/09370

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

23.07.03

24 JAN 2005

REC'D 12 SEP 2003

WIPG PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2002年 7月24日

出 願 番 号
Application Number: 特願2002-214694
[ST. 10/C]: [JP2002-214694]

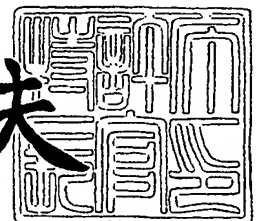
出 願 人
Applicant(s): 株式会社紅豆杉

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 8月28日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願
【整理番号】 A10
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 A61K 31/05

【発明者】

【住所又は居所】 富山県富山市五艘 1 3 5 7 - 1 7

【氏名】 門田 重利

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県相模原市相原 5 - 3 森ビル 株式会社紅豆杉
内

【氏名】 信川 高寛

【特許出願人】

【識別番号】 399015218

【氏名又は名称】 株式会社紅豆杉

【特許出願人】

【識別番号】 501300595

【氏名又は名称】 門田 重利

【代理人】

【識別番号】 100116816

【弁理士】

【氏名又は名称】 藤原 道彦

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 123446

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

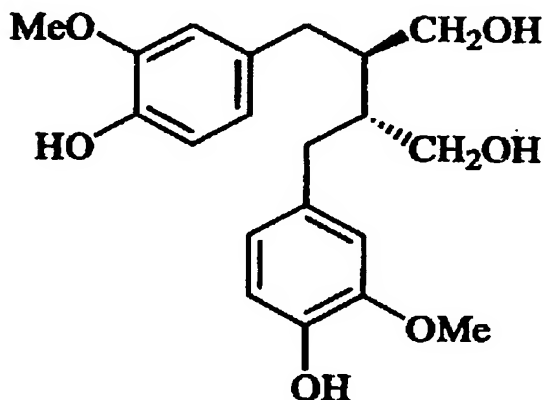
【書類名】 明細書

【発明の名称】 リグナン類医薬

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

【化 1】 式 (1)

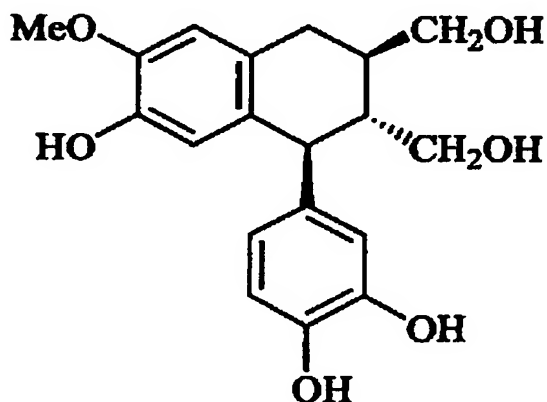


(式中Meはメチル基を表す)

で示されるリグナン類化合物を含有する医薬。

【請求項 2】

【化 2】 式 (2)



(式中Meはメチル基を表す)

で示されるリグナン類化合物を含有する医薬。

【請求項 3】 血糖降下剤であることを特徴とする請求項 1 乃至 2 いずれか記載

の医薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、新規なリグナン類医薬組成物に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

真性糖尿病は炭化水素、脂質、及びタンパク質の代謝障害であり、人の死亡原因の上位となっており、世界中の約10%の人々が発症しているとの報告もある。この糖尿病患者に対して、インシュリンや様々な副作用を伴ういくつかの血糖降下剤を除いてほかに有効な薬剤は依然として現れていない。

【0003】

一方、中国の雲南省などに生息している高山植物である紅豆杉は、以前中国政府が伐採禁止、売買禁止にし、手厚く保護されていたために、利用、研究が進められていなかった。ところが近年輸出もされるようになり、様々な疾病に効果があることが知られるようになってきた。

紅豆杉の植物体には驚異的な抗ガン作用を示すタキソールを始め、数十種類もの抗腫瘍活性成分が含まれていることが確認されている。また、タキサン誘導体が単離され、その抗ガン剤、抗アレルギー剤、糖尿病治療剤、血圧正常化剤としての効能が明らかにされている（特願2002-0311328）。しかし、紅豆杉は貴重な植物として保護されていたため、その疾病回復作用があっても、紅豆杉に含まれる化合物とその化合物の効能については、いまだ解明の途上にある。

【0004】

そこで、発明者らは紅豆杉に含まれている化合物を鋭意研究し、医薬組成物を発明するに至ったものである。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は新規の医薬を提供することを課題とする。また、本発明は新規の血糖

降下剤を提供することを課題とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】

請求項1記載の発明は、式(1)で示されるリグナン類化合物を含有する医薬である。請求項2記載の発明は、式(2)で示されるリグナン類化合物を含有する医薬である。請求項3記載の発明は、請求項1乃至2いずれか記載の医薬組成物が血糖降下剤であることを特徴とする。

【0007】

【発明の実施の形態】

本発明にかかるリグナン類化合物は紅豆杉から単離された。紅豆杉(タキサス・ユンナネンシス(*Taxus yunnanensis*))は、中国の雲南省などの高山に生育する樹木であり、中国では赤柏松、紫杉、紫金杉の別名でも呼ばれる。

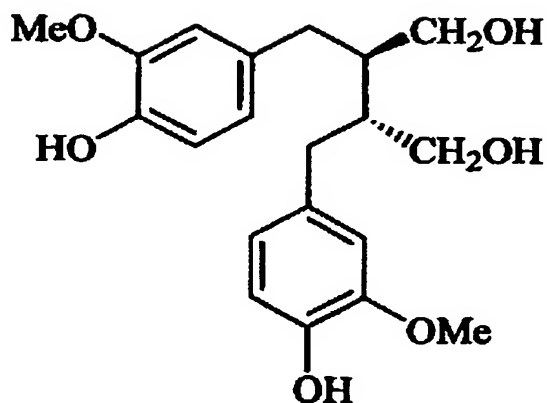
【0008】

本発明にかかるリグナン類化合物は、紅豆杉の植物体(葉、樹皮、材部、芯部、根など)に含まれており、次のようにして抽出、単離することができる。まず、紅豆杉の植物体を熱水抽出し水溶性分画を得る。次に、その水溶性分画を有機溶媒(例えば酢酸エチル)で抽出し有機溶媒可溶分画を得る。さらに、その有機溶媒可溶分画をクロマトグラフィー(カラムクロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー、HPLCなど)を用いて式(1)と式(2)で示されるリグナン類化合物を単離する。

【0009】

式(1)で示される化合物の構造式と物性、及び、図1にIRスペクトル、図2に¹H NMRスペクトルを示す。IRスペクトルはKBr打錠で測定した。

【化3】式(1)



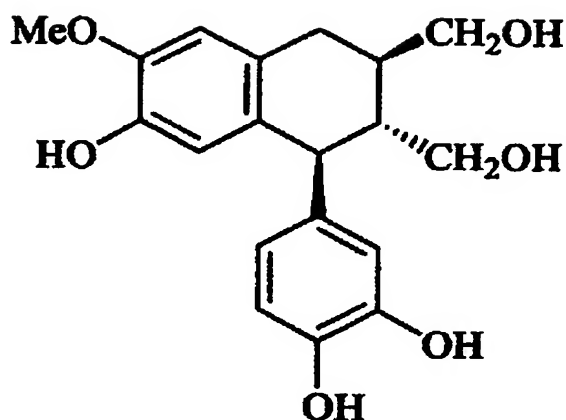
【0010】

セコイソラリシレシノール (Secoisolareciresinol) : 無色固体; $[\alpha]_D^{25} -32.0^\circ$ ($c=0.1$ in Acetone); $^1\text{H NMR}$ (CD_3OD), δ 6.66 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.58 (2H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.53 (2H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz, H-6), 3.71 (3H, s, H-OMe); 3.53 (4H, d, $J = 4.3$ Hz, H-9), 2.56 (2H, dd, $J = 7.3, 13.7$ Hz, H-7), 2.52 (2H, dd, $J = 7.7, 13.7$ Hz, H-7), 1.88 (2H, m, H-8); $^{13}\text{C NMR}$ (CD_3OD) δ 148.6 (C-3), 145.3 (C-4), 133.7 (C-1), 122.6 (C-6), 113.3 (C-2), 115.7 (C-5), 61.9 (C-9), 56.1 (C-OMe), 44.0 (C-8), 36.0 (C-7)

【0011】

式(2)で示される化合物の構造式と物性、及び、図3にIRスペクトル、図4に $^1\text{H NMR}$ スペクトルを示す。IRスペクトルはKBr打錠で測定した。

【化4】式(2)



【0012】

イソタキシレスノール (Isotaxiresinol) ; 無色液体 ; $[\alpha]_D^{25} + 47.3$
 ° (c=0.4 in Ethanol) ; $^1\text{H NMR}$ (CD_3OD), d 6.69 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.61 (1H, s, H-5), 6.52 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.50 (1H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz, H-6'), 6.19 (1H, s, H-2), 4.67 (2H, m, H-9), 4.67 (1H, m, H-9'), 4.66 (1H, d, $J = 6.9$ Hz, H-7'), 3.77 (3H, s, H-OMe), 3.40 (1H, dd, $J = 4.3, 11.1$ Hz, H-9'), 2.73 (1H, br d, $J = 6.8$ Hz, H-7), 1.97 (1H, m, H-8), 1.71 (1H, m, H-8') ; $^{13}\text{C NMR}$ (CD_3OD) d 147.1 (C-3), 146.2 (C-3'), 145.2 (C-4), 144.6 (C-4'), 138.7 (C-1'), 134.3 (C-1), 128.9 (C-6), 122.0 (C-6'), 117.4 (C-2), 117.3 (C-2'), 116.1 (C-5'), 112.3 (C-5), 66.0 (C-9), 62.4 (C-9'), 56.4 (C-OMe), 48.1 (C-8'), 47.8 (C-7'), 40.1 (C-8), 33.5 (C-7)

【0013】

本発明の医薬組成物は経口、非経口、又は経皮投与することができる。投与に適した形態は例えば錠剤もしくは被覆錠、カプセル、溶液、シロップ、粉末、座薬を包含する。

【0014】

錠剤はリグナン類化合物を、例えば乳糖、ブドウ糖、ショ糖、マンニットなどの賦形剤 ; コーンスターチ、アルギン酸などの崩壊剤 ; スターチ、ゼラチンなど

の結合剤；ステアリン酸マグネシウム、タルクなどの滑沢剤；および／またはカルボキシメチルセルロース、セルロースアセテートフタレート、ポリビニルアルコールなどの遅延放出を与える剤を混合することにより製造できる。錠剤はいくつかの層からなっているてもよい。

被覆錠は錠剤と同様にして製造した芯を錠剤被覆に通常用いられる物質、例えばコリドン(collidone)、シェラック(shellac)、アラビアゴム、タルク、二酸化チタン、ショ糖などで被覆することにより製造できる。遅延放出を得るべく芯はいくつかの層からなっているてもよく、また錠剤についての上記賦形剤を用いることができる。

【0015】

液剤、シロップの剤型にするには、リグナン類化合物に、水、エリスリトール、キシリトール、マンニトール、ショ糖、トレハロース、マルトース、フラクトース、ソルビット、蜂蜜などの糖類、パラベンなどの防腐剤、各種香料、着色料、大豆油などの油類を適宜添加、混合して調製することができる。

本発明にかかるリグナン類化合物を含有するカプセルは、当該化合物をゼラチンカプセルに封入し、または当該化合物と例えばラクトース、ソルビトールなどの不活性担体を混合し、混合物をゼラチンカプセルに封入、またはゼラチン膜で被包成形することで製造することができる。

【0016】

【実施例】

以下に実施例により本発明をさらに説明する。この発明の実施例に記載されている原材料、化合物の抽出法などは、この発明の範囲をそれらのみに限定する趣旨のものではなく、単なる説明例にすぎない。

【0017】

(抽出・単離)

紅豆杉は株式会社紅豆杉から入手した。紅豆杉の材部及び樹皮（合わせて木部）を粉碎機で粉碎し、30メッシュパスの木屑状粉末を得た。その乾燥粉末850グラム（以下gと記す）を4リッター（以下Lと記す）の水で30分間還流抽出した。濾過後、残渣に4Lの水を加えて30分間還流抽出した。さらに同じ還

流抽出操作を 1 回繰り返した。3 回の水抽出液を合わせて減圧濃縮し、水抽出分画 5 2 . 5 g を得た。

次に、水抽出分画 5 0 . 0 g を 5 0 0 ミリリットル（以下 mL と記す）の酢酸エチルで抽出し酢酸エチル層を分離した。分離後、残渣に 5 0 0 mL の酢酸エチルを加えて抽出した。さらに同じ抽出操作を 1 回繰り返した。3 回の抽出操作で得た酢酸エチル層を合わせて減圧濃縮し、酢酸エチル可溶分画 3 4 . 1 g を得た。

【 0 0 1 8 】

さらに、シリカゲルカラム（内径 3 . 5 c m、長さ 6 0 . 0 c m、充填物：Si lica gel 60（ナカライテスク株式会社（京都））に前記酢酸エチル可溶分画 3 2 . 0 g を添加し、クロロホルムにメタノールを混合した展開溶媒を使用して、溶出操作を行い 1 0 0 mL 毎の 2 2 分画を得た。展開溶媒の組成と、分画中に含まれる成分、各分画液体を減圧濃縮して得た流出物の重量を表 1 に示した。

【 0 0 1 9 】

【表 1】

紅豆杉水抽出分画の酢酸エチル可溶分画の
カラムクロマトグラフィー

分画 番号	溶媒の組成 * 1 MeOH %	成分 * 2	重量 g
1	0		0.312
2	0		0.298
3	1		0.269
4	1	1	0.559
5	2	1	0.209
6	2	1	0.523
7	2	1	0.571
8	5	1	0.513
9	5	1	0.409
10	5	1,T	0.404
11	5	1,T	0.392
12	5	1,T	0.884
13	10	1,2,T	3.548
14	10	1,2,T	7.070
15	10	1,2,T	1.837
16	10	2	1.344
17	10	2	2.157
18	10	2	2.847
19	20	2	0.641
20	20	2	0.852
21	20		1.411
22	30		0.998

* 1 溶媒はクロロホルムとメタノールの混合液であり、
表中にはメタノールの混合百分率を示す

* 2 1は式(1)の化合物、2は式(2)の化合物、
Tはタキシレシノールを示す

各分画を薄層クロマトグラフィーで確認した結果、第4から第9分画に式(1)の化合物が合計2.7g含まれ、第16から第20分画に式(2)の化合物が合計7.8g含まれていた。同様に第10から第12分画には式(1)の化合物とタキシレシノールが含まれていた。第13～第15分画には式(1)の化合物、タキシレシノール、式(2)の化合物が含まれていた。

【0020】

第10から第12分画を合わせて、そのうちの100mgを分取薄層クロマト

グラフィーにより分離した。薄層板は、シリカゲル板 (Silica gel 60 F 254 (メルク社製)、厚さ 0.5 ミリメートル) であり、展開溶媒は酢酸エチルを使用した。式 (1) の化合物の R_f 値は 0.55、タキシレシノールの R_f 値は 0.44 であった。これにより、式 (1) の化合物を 42 mg、タキシレシノールを 40 mg 得た。

【0021】

式 (1) の化合物と式 (2) の化合物の構造式は、分光学的および化学的な分析に基づき、決定・確認した。

【0022】

(試験例)

ラットを用いて、式 (1) の化合物と式 (2) の化合物の血糖値降下の作用を試験した。

血中グルコース濃度は、採血した全血を血球分離し血清を用いて測定した。試験薬はグルコース CII-テストワコー (和光純薬工業株式会社) を使用し、吸光度測定には UV-160A (株式会社島津製作所) を使用した。

【0023】

5-6 週齢、体重 180-200 g の雄性ウイスターラットを 16 時間絶食した後、ストレプトゾシン (以下 STZ と記す) (55 mg/Kg (ラットの体重)) のクエン酸緩衝液 (pH 4.2) を腹腔内に注射した。STZ を注射した後、5 日後に尾静脈より採血し血中グルコース濃度を測定した。そして、血中グルコース濃度が 250 mg/dL 以上のラットを糖尿ラットとして試験に用いた。

【0024】

糖尿ラットに式 (1) の化合物を 100 mg/Kg (ラットの体重) の量で、12 時間間隔で 5 回腹腔内に注射し、その後尾静脈より採血し血中グルコース濃度を測定した。陽性コントロールとして、前記糖尿ラットにトリブタマイド 200 mg/Kg (ラットの体重) とブホルミン 1 mg/Kg (ラットの体重) の混合物を同様に腹腔内投与し、血中グルコース濃度を測定した。

【0025】

その結果を図 5 に示す。図中の血中グルコース濃度は 4 匹のラットの平均値 ±

標準偏差として表示した。また、**はコントロールに対する有意差が $p < 0.01$ であることを表す。

式(1)の化合物は 100 mg/Kg (ラットの体重)の投与量で血糖値を 33.4% 減少した。これは血糖値を 24.0% 減少した陽性コントロールと同等の効果であった。

【0026】

次に、前記糖尿ラットに式(2)の化合物を 100 mg/Kg (ラットの体重)の量で、12時間間隔で5回腹腔内に注射し、その後尾静脈より採血し血中グルコース濃度を測定した。陽性コントロールとして、前記糖尿ラットにトリブタマイド 200 mg/Kg (ラットの体重)とブホルミン 1 mg/Kg (ラットの体重)の混合物を同様に腹腔内投与し、血中グルコース濃度を測定した。

【0027】

その結果を図6に示す。図中の血中グルコース濃度は4匹のラットの平均値±標準偏差として表示した。また、**はコントロールに対する有意差が $p < 0.01$ であることを、*はコントロールに対する有意差が $p < 0.05$ であることを表す。

式(2)の化合物は 100 mg/Kg (ラットの体重)の投与量で血糖値を 23.6% 減少した。これは血糖値を 24% 減少した陽性コントロールと同等の効果であった。

【0028】

【発明の効果】

請求項1の発明は様々な疾病治療や健康増進に効果的な医薬である。請求項2の発明は様々な疾病治療や健康増進に効果的な医薬である。請求項3の血糖降下剤は糖尿病治療剤に用いることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】式(1)化合物のIRスペクトルである。

【図2】式(1)化合物の ^1H NMRスペクトルである。

【図3】式(2)化合物のIRスペクトルである。

【図4】式(2)化合物の ^1H NMRスペクトルである。

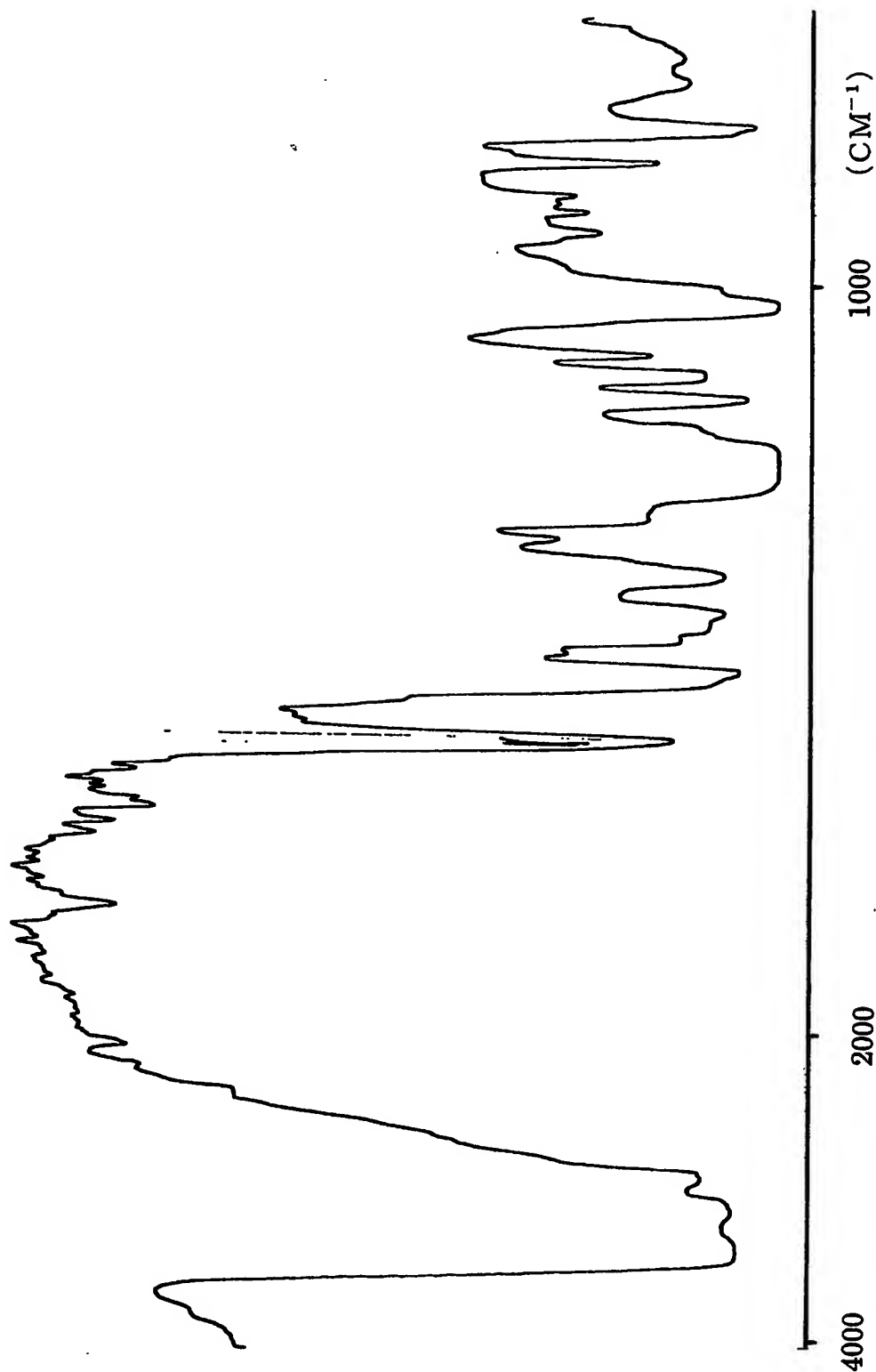
【図5】ラットを用いた式(1)の化合物の血糖値降下の試験結果を示すグラフである。

【図6】ラットを用いた式(2)の化合物の血糖値降下の試験結果を示すグラフである。

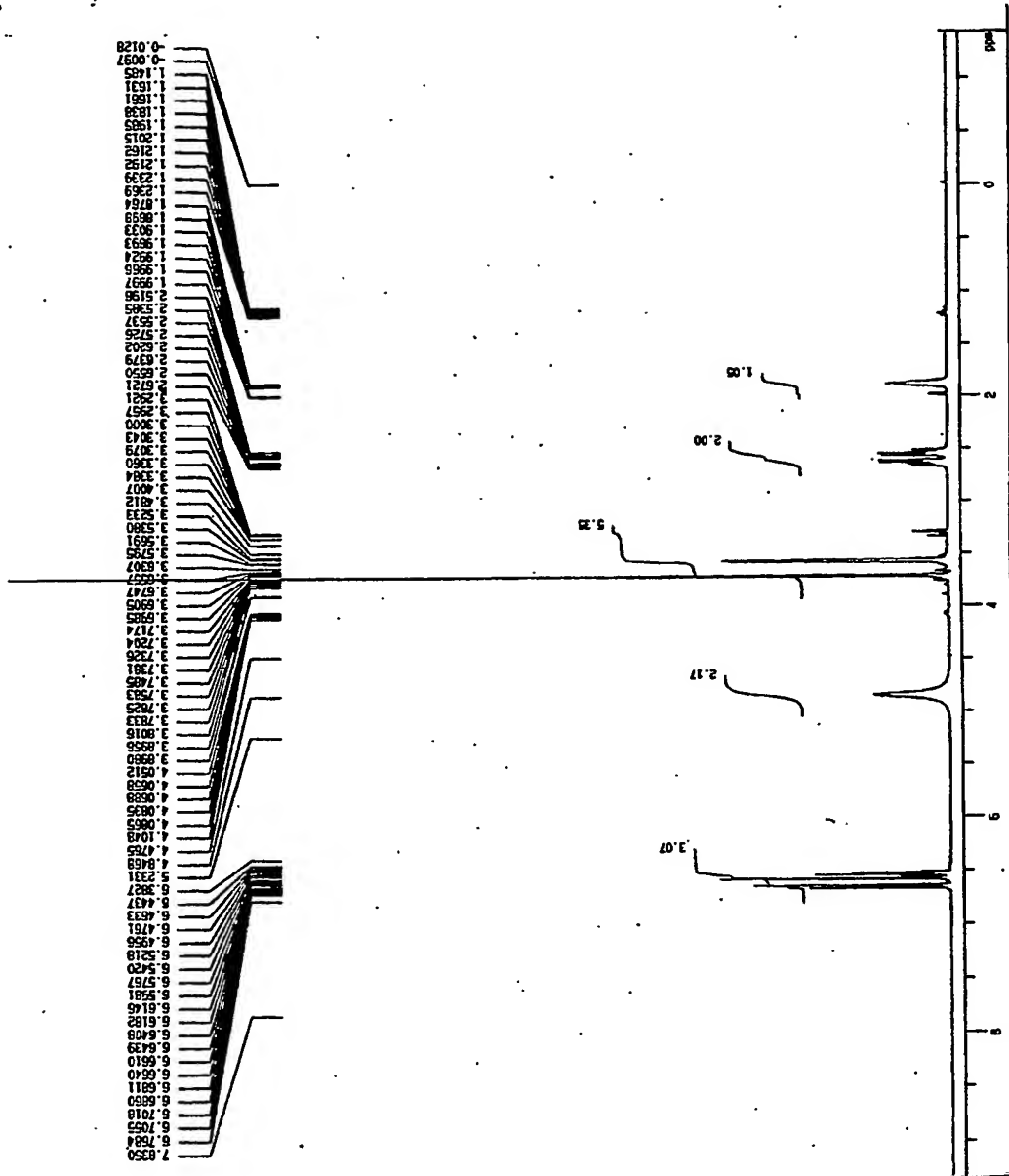
【書類名】

図面

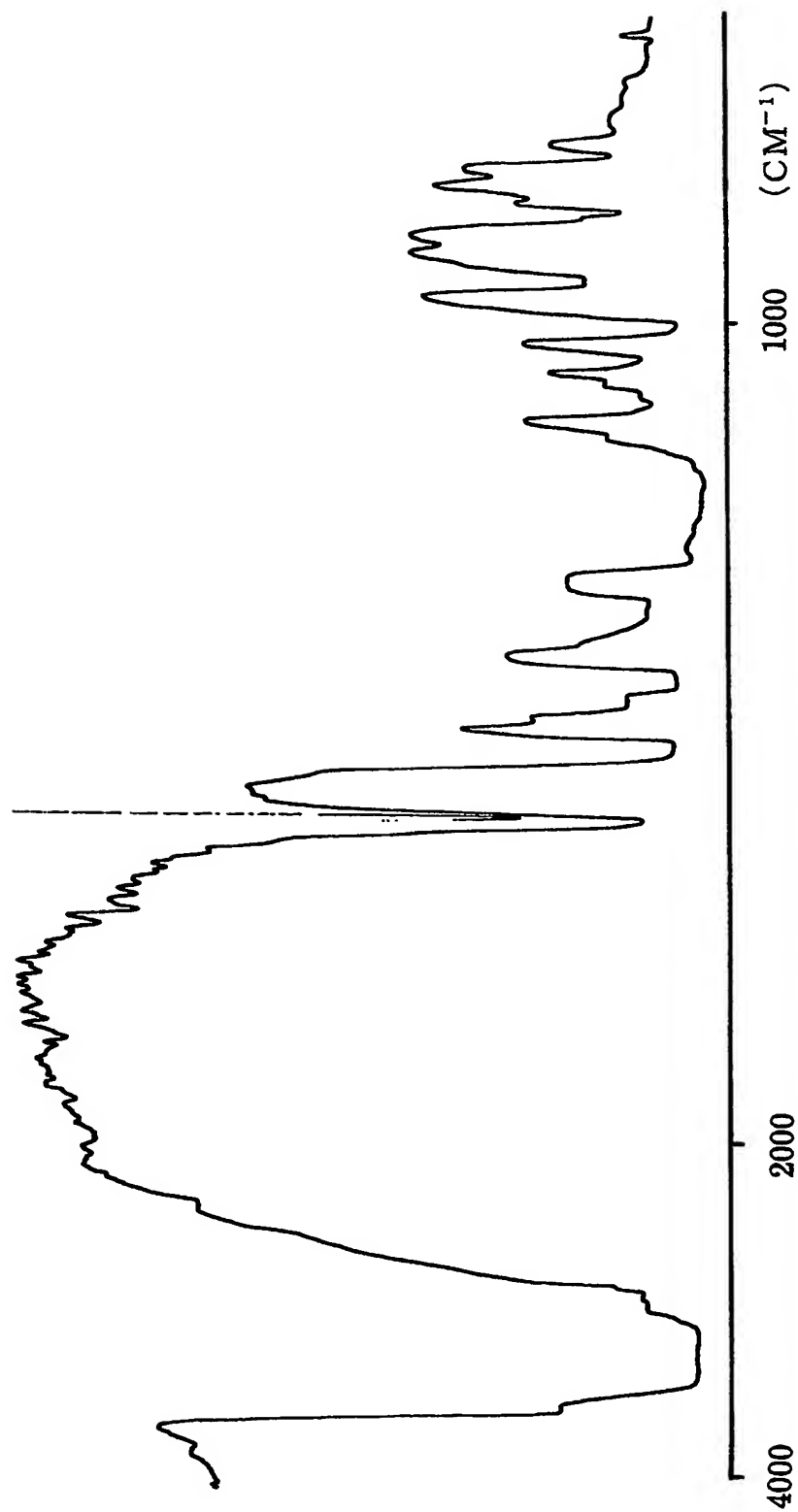
【図 1】



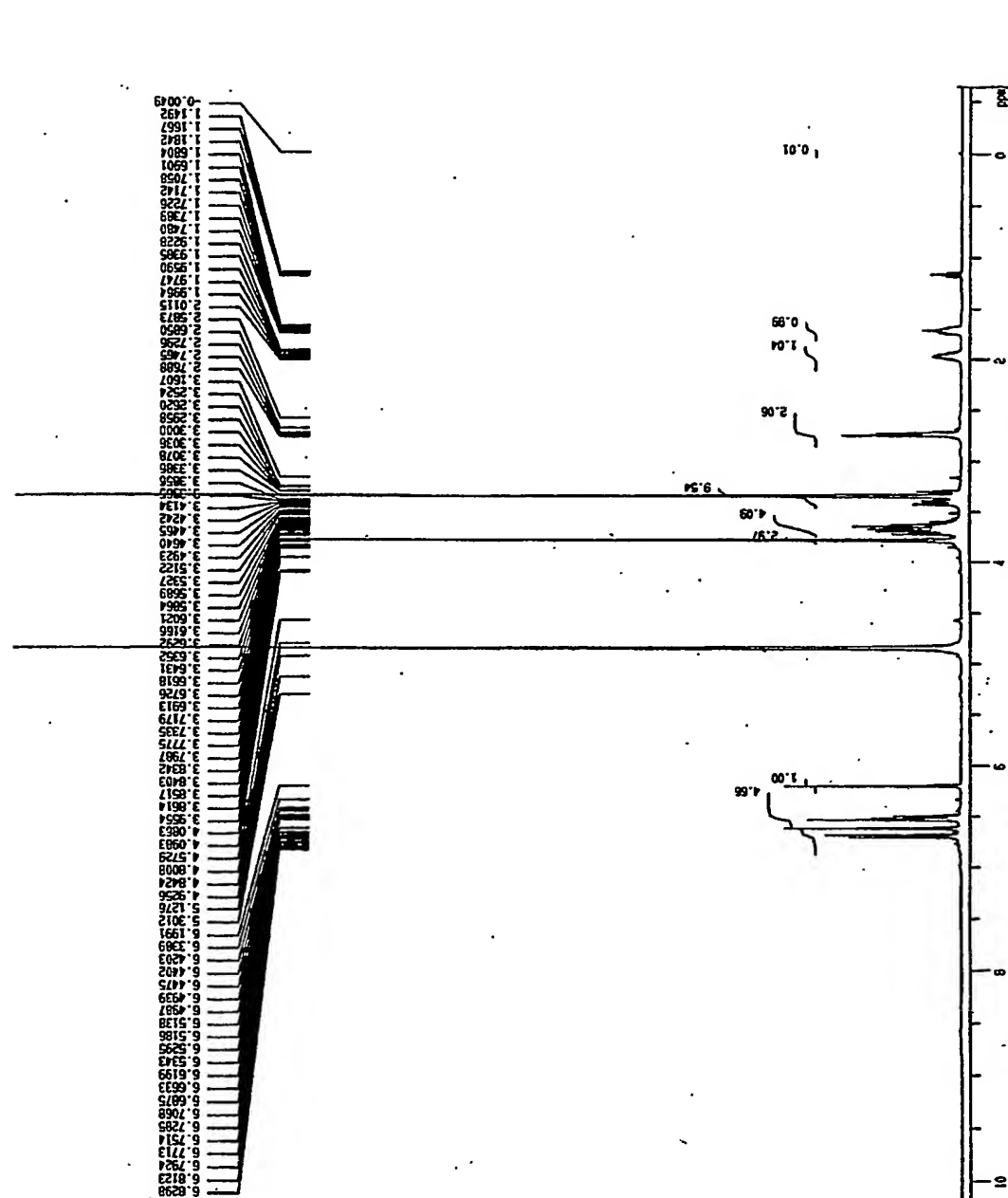
【図 2】



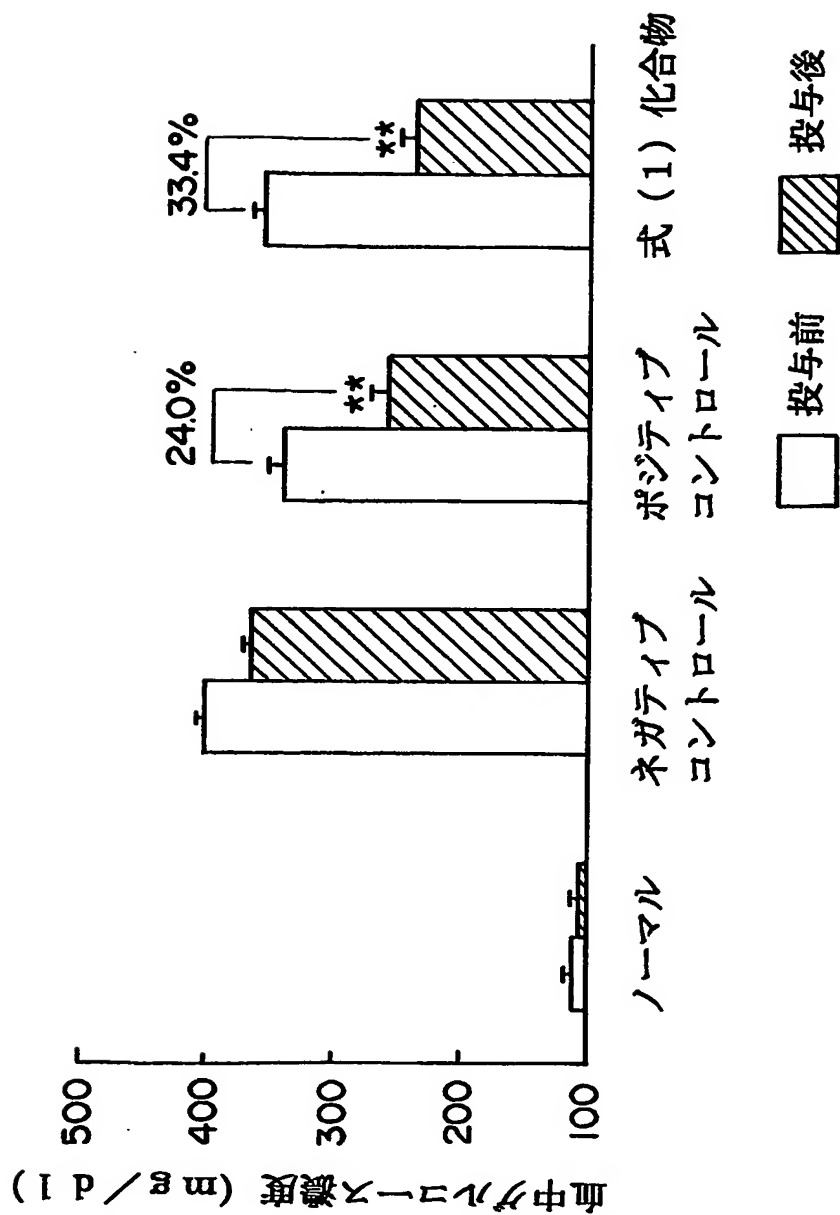
【図 3】



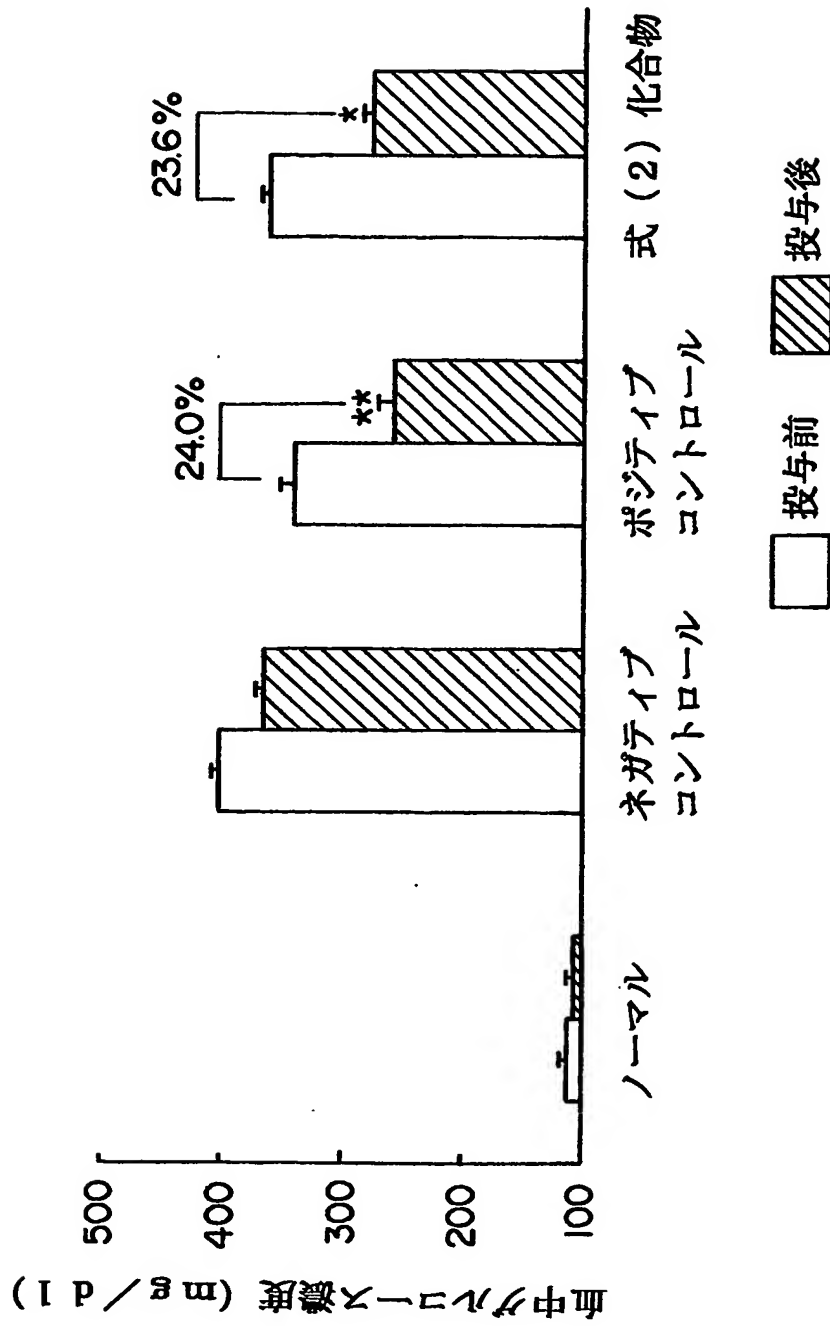
【図 4】



【図 5】



【図 6】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 様々な疾病治療や健康増進に効果的な新規の医薬および血糖降下剤を提供する。

【解決手段】 式（１）および式（２）で示されるリグナン類化合物を含有する医薬および血糖降下剤である。これらリグナン類化合物は紅豆杉から単離された。すなわち、紅豆杉木部を熱水抽出して水溶性分画を得た。次にその水溶性分画を有機溶媒で抽出し有機溶媒可溶分画を得た。さらにこれをクロマトグラフィーで単離、精製して得たリグナン類化合物である。

【選択図】 図 5

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2002-214694
受付番号	50201084745
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0094
作成日	平成14年 7月25日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成14年 7月24日
【特許出願人】	
【識別番号】	399015218
【住所又は居所】	神奈川県相模原市相原 5-3 森ビル
【氏名又は名称】	株式会社紅豆杉
【特許出願人】	
【識別番号】	595104507
【住所又は居所】	富山県富山市五艘 1357-17
【氏名又は名称】	門田 重利
【代理人】	申請人
【識別番号】	100116816
【住所又は居所】	京都府宇治市宇治蛇塚 49番地の3 1 藤原国際 特許事務所
【氏名又は名称】	藤原 道彦

次頁無

【書類名】 出願人名義変更届
【整理番号】 A10
【あて先】 特許庁長官 殿
【事件の表示】
 【出願番号】 特願2002-214694
【承継人】
 【識別番号】 399015218
 【氏名又は名称】 株式会社紅豆杉
 【代表者】 信川 真貴子
【承継人代理人】
 【識別番号】 100116816
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 藤原 道彦
【手数料の表示】
 【予納台帳番号】 123446
 【納付金額】 4,200円
【提出物件の目録】
 【包括委任状番号】 0300321
【プルーフの要否】 要

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2002-214694
受付番号	50300787404
書類名	出願人名義変更届
担当官	植田 晴穂 6992
作成日	平成15年 6月23日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成15年 5月13日
-------	-------------

次頁無

特願 2002-214694

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[399015218]

1. 変更年月日

2000年10月24日

[変更理由]

住所変更

住 所

神奈川県相模原市相原5-3 森ビル

氏 名

株式会社紅豆杉

特願 2002-214694

出願人履歴情報

識別番号 [501300595]

1. 変更年月日 2002年 1月11日
[変更理由] 識別番号の二重登録による抹消
[統合先識別番号] 595104507
住 所 富山県富山市五艘1357-17
氏 名 門田 重利

特願 2002-214694

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[595104507]

1. 変更年月日 2002年 1月11日
[変更理由] 識別番号の二重登録による統合
[統合元識別番号] 501300595
住 所 富山県富山市五艘1357-17
氏 名 門田 重利